

# 利用双尾法定位大豆水溶性蛋白 QTL

陈 强<sup>1</sup>,雷雅坤<sup>3</sup>,闫 龙<sup>2</sup>,邓莹莹<sup>1</sup>,杨春燕<sup>2</sup>,乔亚科<sup>1</sup>,  
刘兵强<sup>2</sup>,刘 青<sup>2</sup>,唐晓东<sup>2</sup>,张孟臣<sup>1,2</sup>

(1. 河北科技师范学院 生命科技学院,河北 昌黎 066600;2. 河北省农林科学院 粮油作物研究所,国家大豆改良中心  
石家庄分中心,农业部黄淮海大豆生物学与遗传育种重点实验室,河北省遗传育种重点实验室,河北 石家庄 050035;  
3. 河北省农林科学院 农业信息与经济研究所,河北 石家庄 050051)

**摘要:**大豆水溶性蛋白是大豆籽粒蛋白质的主要组成部分,其含量是评价大豆品质及衡量其价值的重要指标。以高水溶性蛋白含量(38.70 ± 1.32)%的冀豆12和正常水溶性蛋白含量(32.40 ± 1.08)%的黑豆(ZDD03651)为亲本构建的包含188个家系的F<sub>8</sub>、F<sub>9</sub>重组自交系群体为材料,利用双尾法在3个不同选择压力下对籽粒水溶性蛋白含量进行QTL定位研究。结果表明,2年中重组自交家系群体表型均呈现正态性超双亲分离,在30%、20%、10%这3个不同选择压力下共检测到大豆籽粒水溶性蛋白含量相关的QTL 23个,分布在A1、A2、C2、D1b、D2、E、F、H、I、K、L、M和O等13个连锁群中,其中13个QTL增效基因来自冀豆12。2年中在10%的选择压力下同时检测到2个QTL,分别为*qSPC-6-1*和*qSPC-8-1*。其中*qSPC-6-1*的连锁标记为Sat\_062,2年中贡献率分别为9.78%和9.66%,增效基因来自冀豆12;*qSPC-8-1*的连锁标记为Satt177,2年中贡献率分别为9.78%和7.98%,增效基因来自于黑豆。该结果为分子标记辅助育种及分子克隆提供理论依据。

**关键词:**大豆;水溶性蛋白;双尾法;QTL

**中图分类号:**S565.03 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2014)04-0080-07

## QTL Mapping of Soluble Protein Content in Soybean by Two Tail Analysis

CHEN Qiang<sup>1</sup>, LEI Ya-kun<sup>3</sup>, YAN Long<sup>2</sup>, DENG Ying-ying<sup>1</sup>, YANG Chun-yan<sup>2</sup>,

QIAO Ya-ke<sup>1</sup>, LIU Bing-qiang<sup>2</sup>, LIU Qing<sup>2</sup>, TANG Xiao-dong<sup>2</sup>, ZHANG Meng-chen<sup>1,2</sup>

(College of Biological Science and Technology, Hebei Normal University of Science Technology, Changli 066600, China; 2. Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, National Soybean Improvement Center Shijiazhuang Sub-Center, North China Key Laboratory of Soybean Biology and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Cereal & Oil Crop Institute, Shijiazhuang 050035, China; Institute of Agricultural Information and Economy, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China)

**Abstract:** Water soluble protein is the main component of soybean seed protein, the percentage of water soluble protein is an important index to value measure and quality evaluation. Two tail analysis in three selection pressure (30%, 20%, 10%) were employed to detect quantitative trait loci (QTL) of soybean soluble protein content using 188 recombination inbred lines (RIL) population derived from a cross between Jidou 12 and Heidou, Jidou 12 has high SPC (38.70 ± 1.32)% and Heidou has low SPC (32.40 ± 1.08)%. As a result, SPC phenotypic was appeared to be normal transgressive segregation distribution. And 23 QTLs were detected in 3 selection pressure (30%, 20%, 10%), distribution on A1, A2, C2, D1b, D2, E, F, H, I, K, L, M and O linkage group, 13 of those favorable genes from Jidou 12. There were 2 QTL *qSPC-6-1*, *qSPC-8-1* were detected by the two years in 10% selection pressure. The linkage marker of *qSPC-6-1* was Sat\_062, in two years genetic contribution is 9.78% and 9.66% respectively and favorable gene from Jidou12; The linkage marker of *qSPC-8-1* was Satt177, in two years genetic contribution is

收稿日期:2014-05-07

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAD35B06);国家自然科学基金项目(31201234);河北省博士基金项目(F13E006)

作者简介:陈 强(1987-),男,河北博野人,在读硕士,主要从事大豆分子数量遗传与育种研究。陈强、雷雅坤、闫龙为同等贡献作者。

通讯作者:张孟臣(1956-),男,河北衡水人,研究员,硕士,主要从事大豆遗传育种研究。

9.78% and 7.98% respectively and favorable gene from Heidou. These studies provide a theoretical basis for marker-assisted breeding.

**Key words:** Soybean; Soluble protein; Two tail analysis; QTL

水溶性蛋白(Water soluble protein)是大豆蛋白质的重要组成部分,约占大豆总蛋白含量的70%,主要由7S组分和11S组分组成<sup>[1-2]</sup>。大豆蛋白是重要的植物蛋白,它与人体的必需氨基酸组成比例最接近、更容易被人体吸收,是动物蛋白的主要替代品。而对于高溶解度的蛋白质除了具有较高的营养价值外,还具有良好的功能性质如凝胶性、乳化性、发泡性和脂肪氧化酶活性等,在食品的加工和利用中有着重要的作用。从大豆作为食物的功能性和营养学角度分析,大豆水溶性蛋白含量(SPC)是评价大豆品质及衡量其价值的重要指标<sup>[3-5]</sup>。

大豆水溶性蛋白质含量为复杂的数量性状,受多基因控制,易受环境因素的影响。该性状 QTL 定位研究的报道尚不多见, Lu 等<sup>[6]</sup>以水溶性蛋白含量较高的品种 ZDD09454 为母本,水溶性蛋白含量较低品种豫豆 12 为父本构建杂交组合,以 212 份  $F_{2:9}$  重组自交家系为材料,在 2 年 3 点共 6 个环境中检测到水溶性蛋白含量相关的 11 个 QTL,其中在多个环境下均能检测到的有 2 个,均位于 A2 连锁群,紧密连锁标记分别为 GMENOD2B 和 Sat\_215。Beilinson 等<sup>[7]</sup>检测到 2 个 11S 的基因分别位于 L 和 N 连锁群。Panthee 等<sup>[8]</sup>报道了与大豆 11S 蛋白含量相关的 3 个 QTL,分别位于 D2、I 和 L 连锁群中;与大豆 7S 蛋白含量相关的 2 个 QTL,分别位于 D2 和 J 连锁群中。刘顺湖等<sup>[9]</sup>利用 2 个重组自交系群体对 11S、7S、11S/7S 等 16 个蛋白含量相关性状进行了 QTL 定位分析,共检测到与水溶性蛋白相关 QTL 21 个。

前人多以区间作图法对该性状进行 QTL 定位,目前利用双尾法定位水溶性蛋白含量相关 QTL 的研究尚未见报道。双尾法(选择基因型分析方法)已广泛应用于动植物中质量性状和数量性状基因的定位<sup>[10]</sup>。它假设控制某数量性状的 QTL 与标记连锁,即 QTL 的位置和标记的位置完全重合。选择会引起控制性状的基因频率发生变化,对于和性状无关的基因,其频率选择前后将保持不变,选择基因型分析就是利用这一特性,通过检测标记位点上等位基因频率的差异来检验这个标记附近是否存在控制性状的 QTL。Soufflet-Freslon 等<sup>[11]</sup>利用选择基因型分析方法对苹果的  $F_2$  群体进行分析,定位出苹果抗斑点病基因 *Rv14*。Nandi 等<sup>[12]</sup>从 250 株水稻的

RIL 群体中选择 74 个表型极端的个体,利用 202 个 AFLP 标记鉴定基因型来对水稻的淹涝耐性进行 QTL 分析,并在第 9 号染色体上检测到一个影响水稻耐淹性的主效 QTL。Merk 等<sup>[13]</sup>利用选择基因型法定位了番茄抗晚枯萎病基因。双尾法易受群体大小及两端材料选择压力的影响。Darvasi 等<sup>[14]</sup>认为双向的选择基因型分析,选择 20% ~ 25% 的极端群体已经足够。Gallais 等<sup>[15]</sup>则认为,对于一个给定的群体进行选择基因型分析,最优的选择比例是选择大约 30% 的个体。Navabi 等<sup>[16]</sup>认为,当群体大小在 200 左右时,两端选择分别占总群体的 20% ~ 30% 时分析效果较好。2010 年 Sun 等<sup>[17]</sup>对选择基因型作图法在作物数量性状 QTL 定位中的有效性进行了研究,并提出无论群体大小如何,双向选择比例在 0.15 ~ 0.35 时检测功效较高。

冀豆 12 号是集高产、高蛋白、高水溶性蛋白含量、适应性广为一体的优良大豆品种,其籽粒蛋白含量为 46.48%,被评为国家一级优异种质,现为国家区域试验统一对照种<sup>[18]</sup>。闫龙等<sup>[19]</sup>以冀豆 12 为轮回亲本,以 28 个来源不同、蛋白脂肪含量不同的大豆品种为供体亲本构建群体,分析以冀豆 12 为遗传背景的导入系后代蛋白、脂肪的分布,结果 28 个群体中均有超高亲个体存在,有 64.3% 的组合中超高亲比例在 40% 以上。并进一步研究明确了冀豆 12 的 4 个染色体片段对 20 个 SSR 标记位点有蛋白调控作用,选育出蛋白质含量 50% 以上的优异后代品系,证明冀豆 12 遗传背景中还有较多高蛋白 QTL<sup>[20]</sup>。

本研究以冀豆 12 × 黑豆组合  $F_8$ 、 $F_9$  重组自交家系为材料,利用双尾法在 30%、20%、10% 这 3 个不同选择压力下对籽粒水溶性蛋白含量进行分析,确定大豆水溶性蛋白含量相关的 QTL,为分子标记辅助育种、高水溶性蛋白育种及分子克隆提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料及田间试验

以冀豆 12 为母本、黑豆为父本杂交所得包含 188 个重组自交家系的  $F_8$ 、 $F_9$  群体为材料。冀豆 12 为河北省农林科学院粮油作物研究所由油 83-14 × 晋大 7826 组合杂交选育而成。父本黑豆为陕西地

方品种,编号为 ZDD03651。2011 (F<sub>8</sub>) 和 2013 (F<sub>9</sub>) 年分别将双亲及 RIL 群体播种于河北省农林科学院粮油作物研究所堤上试验站。采用随机区组 3 重复设计,行长 2 m,行距 50 cm,株距 10 cm。

### 1.2 水溶性蛋白含量测定及双尾材料选择

采用张孟臣等<sup>[21]</sup>优化的考马斯亮蓝法进行大豆籽粒水溶性蛋白含量的检测。具体流程:称取 1 g 样品粉末溶于 50 mL 蒸馏水中,20 °C 振荡 60 min,2 000 r/min 离心 10 min,取上清置于 1 000 mL 容量瓶,加蒸馏水定容至 1 000 mL,制成水溶性蛋白待测液。以不同浓度 (0, 100, 200, 400, 600, 800, 1 000 μg/mL) 的牛血清白蛋白标准溶液绘制 3 条标准曲线取平均值。取 40 μL 待测液置于离心管中,加入 2 mL 考马斯亮蓝 G-250 染液,加盖摇匀后置于比色杯中,在分光光度计中测定吸光度(随时间修正参比)。将吸光度值带入标准曲线公式,计算出水溶性蛋白含量。根据群体中 3 次重复表型数据平均值,在群体两端按 30%, 20%, 10% 这 3 个不同选择压力下选择极端表型值材料(30% 选择压力即所选两尾材料分别占群体总量的 30%)。

### 1.3 基因型检测

在田间采集亲本和 RIL 群体材料新鲜幼嫩叶片,采用 SDS 法提取双亲及群体材料 DNA<sup>[22]</sup>。参照 Cregan<sup>[23]</sup> 和 Song 等<sup>[24]</sup> 的大豆公共图谱在所有 20 条连锁群中均匀地选取 SSR 引物 495 对,筛选双亲间存在多态性的 SSR 标记用于双尾材料进行基因型分析。PCR 扩增体系、扩增程序及电泳检测参照文献<sup>[25]</sup>。

### 1.4 数据分析

采用 SPSS 17.0 对表型数据进行分析并计算均值、方差、峰度、偏度、正态检验及双因素方差分析等。

广义遗传力的计算采用以下的公式:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2/e + \sigma_e^2/re} \times 100\% \quad [26]$$

其中: $\sigma_g^2$  表示基因型方差; $\sigma_{ge}^2$  表示基因型与环境互作的方差; $\sigma_e^2$  为误差项; $e$  为环境数。

QTL 定位采用双尾法<sup>[27-30]</sup>,具体方法如下:极端材料中,将与冀豆 12 带型一致的记为 A,与黑豆带型一致的记为 B。分别统计每个标记在两尾群体中两等位变异的频率分布,依据孟德尔遗传,以 1:1 为期望值对其两尾中等位变异频率进行卡方检测。以  $p_{\max}$  表示高尾材料中某标记处 A (或 B) 等位变异

所占的比例, $p_{\min}$  表示低尾材料中某标记处 A (或 B) 等位变异所占的比例, $p_{\max} - p_{\min}$  为 2 组材料间等位基因频率差。每个标记等位变异间差异的标准误差  $\sigma_p = 1/2(p_{\max} q_{\max}/2N_{\max} + p_{\min} q_{\min}/2N_{\min})$ ,其中, $p_{\max}$  和  $q_{\max}$  分别为高、低尾材料中两等位变异所占比例, $N_{\max}$  为所选高尾材料的个数, $p_{\min}$ 、 $q_{\min}$  和  $N_{\min}$  则是在低尾材料中表示同上。当“ $p_{\max} - p_{\min} \geq 3\sigma_p$ ”时,确定该标记为与性状紧密连锁。在一定遗传距离内 (20 cM) 同时检测到多个标记与性状连锁时,选择  $p_{\max} - p_{\min}$  与  $3\sigma_p$  间差值最大标记为性状紧密连锁标记。QTL 命名参照水稻中 McCouchsr 等<sup>[31]</sup> 的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 群体表型变异分析

从表 1 可以看出,2 年中母本冀豆 12 的水溶性蛋白含量分别为 38.70% 和 38.50%,父本黑豆分别为 32.40% 和 33.25%,亲本间性状表型值相差约 6.13%,占低表型亲本黑豆的 18.77%。2011 年群体表型值为 24.26%~39.73%,均值为 32.52%,2013 年群体表型值为 25.14%~41.34%,均值为 34.40%,2 年中群体表型呈现出连续性超双亲分布。群体表型变异系数分别为 9.77% 和 9.51%,峰度和偏度值均接近于 0,正态检验  $P$  值为 0.499 ( $> 0.05$ ),表型呈现正态分布(表 1、图 1),该性状广义遗传力为 41.49%。双因素方差分析结果显示,环境、基因型及二者间的交互作用对水溶性蛋白含量的影响显著 ( $P \leq 0.01$ )。

在 3 个不同的选择压力下选择群体中两尾极端表型值材料,其中在 30% 压力下选择高尾(表型值较高)和低尾(表型值较低)的材料各 57 份,2011 年中高尾材料中水溶性蛋白含量为 34.02%~39.70%,均值为 35.63%,低尾材料中为 24.26%~31.70%,均值为 29.71%,两尾材料表型值比较显示,表型均值差为 5.92%,差值占低尾材料均值的 19.92%,差异较显著;2013 年中表型较高材料中水溶性蛋白含量为 36.04%~41.34%,均值为 38.05%,表型较低材料中为 25.14%~32.90%,均值为 30.52%,两尾材料表型值比较显示,表型均值差为 7.53%,差值占低尾材料均值的 24.67%,差异较显著。20% 压力下选择极端材料各 38 份,10% 压力下选择极端材料各 19 份,2 年中两尾极端材料表型值范围及均值见表 1。

表 1 亲本、群体及两尾材料水溶性蛋白含量表型特征值

年份 Years	亲本 Parents		RIL 群体 RIL population		选择压力 Selection pressure	高尾材料 The high tail		低尾材料 The low tail	
	冀豆 12 Jidou 12	黑豆 Heidou	范围 Rang	均值 Mean		范围 Rang	均值 Mean	范围 Rang	均值 Mean
	2011	38.70 ± 1.32	32.40 ± 1.08	24.26 ~ 39.73		32.52	30%	34.02 ~ 39.70	35.63
					20%	34.82 ~ 39.70	36.24	24.26 ~ 30.13	28.88
					10%	36.98 ~ 39.70	37.59	24.26 ~ 28.14	26.68
2013	38.50 ± 1.25	33.25 ± 0.98	25.14 ~ 41.34	34.40	30%	36.04 ~ 41.34	38.05	25.14 ~ 32.90	30.52
					20%	36.95 ~ 41.34	38.86	25.14 ~ 31.70	29.64
					10%	38.48 ~ 41.34	39.75	25.14 ~ 30.18	28.25

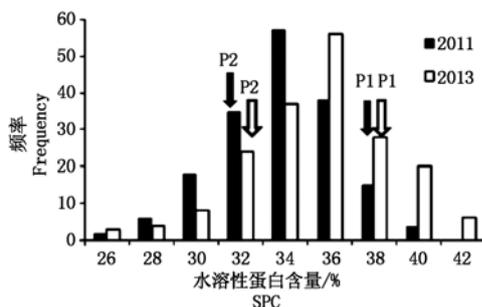


图 1 群体水溶性蛋白含量性状频率分布图

Fig.1 Frequency distribution of soluble protein of soybean

表 2 163 个 SSR 标记在连锁群中分布

Tab.2 Frequency distribution of 163 SSR marker in 20 linkage groups

连锁群 LG	标记个数 Marker number	标记间平均距离/cM Average distance between marker	连锁群 LG	标记个数 Marker number	标记间平均距离/cM Average distance between marker
A1	9	11.16	F	9	13.11
A2	12	13.89	G	8	13.57
B1	5	22.00	H	8	13.00
B2	6	21.52	I	8	13.61
C1	10	13.32	J	5	13.32
C2	11	12.70	K	7	16.65
D1a	8	14.91	L	7	16.14
D1b	10	12.10	M	11	9.42
D2	8	16.35	N	8	12.10
E	6	11.09	O	7	12.77

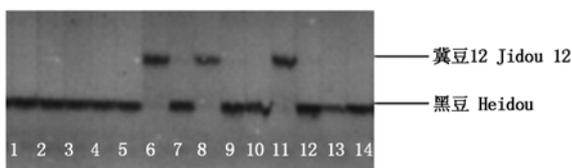


图 2 标记 Satt384 在群体部分材料中的基因型

Fig.2 Result of primer Satt384 in part of population

### 2.3 QTL 定位结果

单个标记等位基因频率在期望值为 1:1 时的卡方检验,结果显示:2011 年 30% 选择压力下高尾材料中有 15 个(占总标记 9.20%)标记呈现显著性 ( $P < 0.05$ ),低尾材料中有 6 个(占总标记 3.68%)标记处呈现显著性 ( $P < 0.05$ );20% 选择压力下高、低尾材料中呈现显著性的标记分别有 17 个和 8 个;10% 选择压力下高、低尾材料中呈现显著性的标记

### 2.2 分子数据

通过筛选得到双亲间多态性的引物 221 个,多态率为 44.6%,从中选择扩增效果较好的 SSR 标记 163 个对双尾极端材料进行基因型分析(图 2)。所选引物在连锁群中的分布见表 2。单个连锁群中分布的 SSR 标记个数为 5 ~ 12 个,公共图谱中标记间平均距离为 9.24 ~ 22.00 cM,其中 B1 和 B2 连锁群中标记间平均距离大于 20 cM。

分别有 13 个和 6 个。2013 年 30% 选择压力下高、低尾材料中分别有 11 个(分别占总标记 6.74%)标记处呈现显著性 ( $P < 0.05$ );20% 选择压力下高、低尾材料中呈现显著性的标记分别有 13 个和 12 个;10% 选择压力下高、低尾材料中呈现显著性的标记分别有 15 个和 6 个。

2011 年和 2013 年共定位 23 个与大豆水溶性蛋白相关的 QTL(表 3,图 3),分布在 A1(2 个)、A2(3 个)、C2(3 个)、D1b(2 个)、D2、E、F(2 个)、H(2 个)、I、K、L、M(2 个)、O(2 个)等 13 个连锁群中,增效基因来自冀豆 12(加性效应为负值)的 QTL 有 13 个。

2011 年共检测到 11 个 QTL。30%,20%,10% 这 3 个选择压下均能检测到的 QTL 有 2 个,分别为  $qSPC-6-1$ (连锁标记为 Sat\_062)和  $qSPC-17$ (连锁标

记为 sat\_292)。30% 和 20% 这 2 个选择压下均检测到的 QTL 有 3 个, *qSPC-2-2* (连锁标记为 Sat\_069)、*qSPC-7-2* (连锁标记为 Satt346) 和 *qSPC-8-2* (连锁标记为 Sat\_215)。20% 和 10% 这 2 个选择压均能检测到的 QTL 有 2 个, 分别为 *qSPC-5-1* (连锁标记为 Satt449)、*qSPC-9* (连锁标记为 Satt196)。其中 *qSPC-17* 在 30% ,20% ,10% 这 3 个选择压下贡献率均为最高, 分别为 8.4% ,8.11% ,16.3%。

2013 年共检测到 16 个 QTL。其中 *qSPC-2-1* (连锁标记为 Sat\_279)、*qSPC-6-3* (连锁标记为 Satt316)、*qSPC-13-1* (连锁标记为 Satt663) 和 *qSPC-20* (连锁标记为 Satt367) 在 30% 和 20% 这 2 个选择压下均检测到。*qSPC-20* 的贡献率在 30% 和 20% 选择压下最高, 分别为 4.62% ,8.24%。10% 选择压下贡献率最高的位点为 *qSPC-7-1* (连锁标记为 Satt150), 值为 16.62%。

表 3 两年 3 个选择压力下 QTL 定位结果

Tab.3 QTLs during 3 selection pressure in 2011 and 2013

名称 Name	标记 Marker	连锁群 LG	位置 Position	年份 Years	选择压力 Selection pressure	$P_{max} - P_{min}$	$3\sigma_p$	贡献率/% $R^2$	加性效应 A
<i>qSPC-2-1</i>	Sat-279	D1b	3.787	2013	30.00%	-0.27	0.22	4.47	-0.93%
				2013	20.00%	-0.26	0.26	4.31	-1.04%
<i>qSPC-2-2</i>	Sat-069	D1b	102.6	2011	30.00%	-0.22	0.20	3.82	-0.69%
				2011	20.00%	-0.31	0.26	6.31	-0.99%
				2013	30.00%	0.26	0.20	3.34	0.78%
<i>qSPC-5-1</i>	Satt449	A1	27.784	2011	20.00%	0.27	0.25	8.11	1.17%
				2011	10.00%	0.38	0.29	15.21	1.85%
<i>qSPC-5-2</i>	Satt200	A1	92.89	2011	30.00%	0.22	0.21	3.42	0.63%
<i>qSPC-6-1</i>	Sat-062	C2	30.8	2011	30.00%	-0.26	0.20	4.58	-0.63%
				2011	20.00%	-0.28	0.26	4.50	-0.85%
				2011	10.00%	-0.34	0.32	9.78	-1.15%
				2013	10.00%	-0.38	0.33	9.66	-1.95%
<i>qSPC-6-2</i>	Satt457	C2	56.51	2013	10.00%	-0.40	0.34	8.86	-1.82%
<i>qSPC-6-3</i>	Satt316	C2	127.67	2013	30.00%	-0.21	0.21	5.27	-0.99%
				2013	20.00%	-0.26	0.24	7.19	-1.34%
<i>qSPC-7-1</i>	Satt150	M	18.582	2013	20.00%	0.26	0.24	7.79	1.40%
				2013	10.00%	0.44	0.31	16.62	2.58%
<i>qSPC-7-2</i>	Satt346	M	112.79	2011	30.00%	0.26	0.21	2.29	0.50%
				2011	20.00%	0.27	0.26	8.11	1.19%
<i>qSPC-8-1</i>	Satt177	A2	36.77	2011	10.00%	0.35	0.31	9.78	1.39%
				2013	10.00%	0.34	0.33	7.98	1.70%
				2011	30.00%	-0.23	0.21	3.82	-0.59%
<i>qSPC-8-2</i>	Sat-215	A2	53.75	2011	20.00%	-0.28	0.26	3.61	-0.76%
				2011	30.00%	-0.23	0.21	3.05	-0.60%
				2013	10.00%	0.35	0.32	9.58	1.95%
<i>qSPC-9</i>	Satt196	K	104.791	2011	20.00%	0.27	0.26	4.50	0.85%
				2011	10.00%	0.35	0.31	6.52	1.14%
<i>qSPC-10-1</i>	Satt094	O	56.58	2013	20.00%	0.24	0.24	3.96	1.01%
<i>qSPC-10-2</i>	Satt477	O	82.09	2013	30.00%	0.22	0.21	1.42	0.51%
<i>qSPC-12-1</i>	Sat-118	H	62.16	2013	20.00%	-0.27	0.24	3.00	-0.85%
<i>qSPC-12-2</i>	Sat-218	H	99.5	2013	30.00%	0.24	0.22	1.54	0.15%
				2013	30.00%	-0.26	0.22	2.21	-0.64%
<i>qSPC-13-1</i>	Satt663	F	56.17	2013	20.00%	-0.36	0.25	6.02	-1.25%
				2011	30.00%	0.22	0.21	2.29	0.55%
<i>qSPC-13-2</i>	Satt522	F	119.19	2011	30.00%	0.22	0.21	2.29	0.55%
<i>qSPC-15</i>	Satt268	E	44.27	2013	10.00%	-0.46	0.31	14.79	-2.36%
<i>qSPC-17</i>	Sat-292	D2	75.29	2011	30.00%	-0.26	0.21	8.40	-0.96%
				2011	20.00%	-0.26	0.26	8.11	-1.17%
				2011	10.00%	-0.32	0.31	16.30	-1.93%
<i>qSPC-19</i>	Satt232	L	10.35	2013	30.00%	-0.23	0.21	2.75	-0.71%
<i>qSPC-20</i>	Satt367	I	27.98	2013	30.00%	-0.24	0.20	4.62	-0.92%
				2013	20.00%	-0.31	0.24	8.24	-1.45%

注:加性效应为负值表示增效基因来自冀豆 12。

Note: The additive effects of each QTL is shown as a trait unit contribution of the Jidou 12 allele.

2 年同时检测到的 QTL 有 2 个, 分别为 *qSPC-6-1* 和 *qSPC-8-1*, 基因均来自于冀豆 12。都是在 10% 的选择压下检测到, 增效

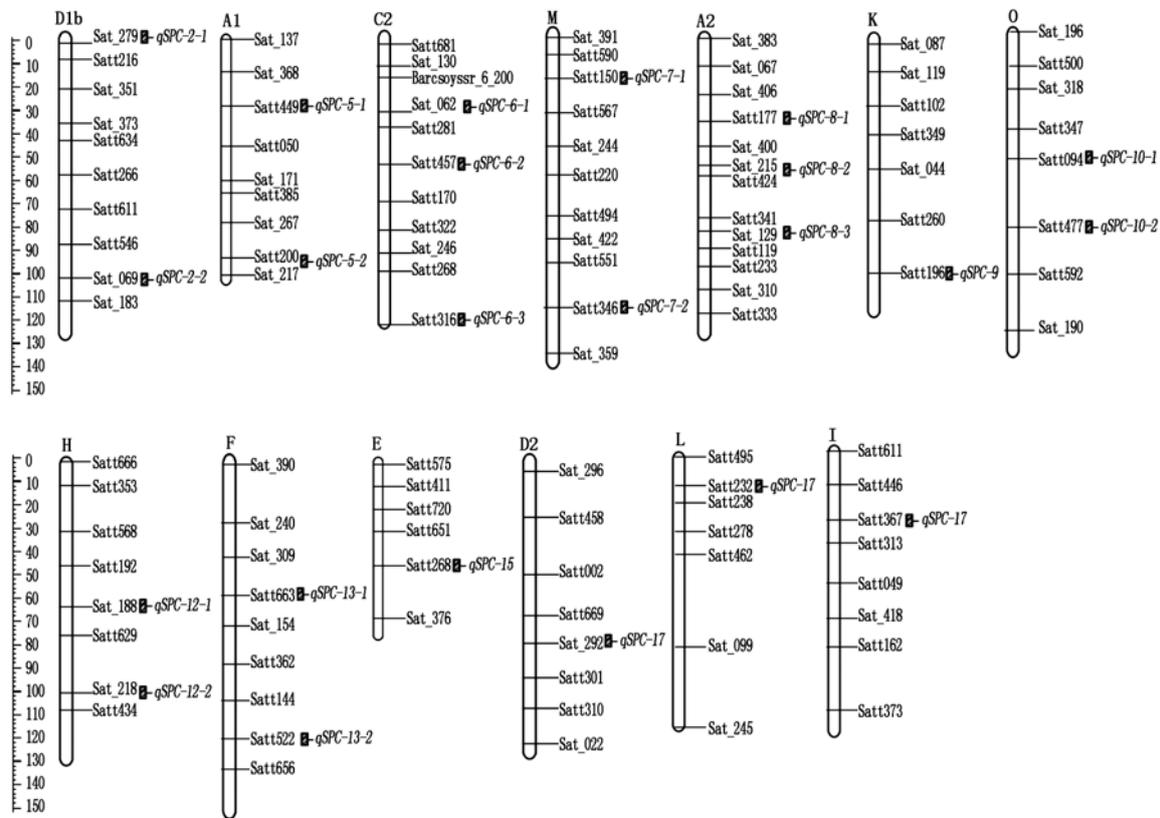


图 3 水溶性蛋白含量 QTL 在连锁群中的位置

Fig. 3 QTL position controlling soluble protein content in linkage group

### 3 讨论

本研究中, 同一群体 2 年中检测到的 QTL 一致性不高, 2 年同时检测到的 QTL 仅有 2 个。比较 Lu 等<sup>[6]</sup>的 QTL 定位结果发现, 其采用复合区间作图法在 3 个环境共检测到水溶性蛋白含量相关 QTL 11 个, 而多环境中同时检测到的也仅有 2 个, 不同环境间 QTL 一致性也不高。分析发现, 其在南通、新乡 2 个地点水溶性蛋白含量性状的广义遗传力分别为 39.9%, 40.1%, 而本研究中该性状广义遗传力也不高 (41.49%), 环境与基因型间的互作对性状的影响显示为极显著, 推测该情况很可能是由于环境影响造成的。具体原因还需进一步分析研究。

1989 年 Lander 和 Botstein 提出了选择基因型的分析方法, 之后多名科学家通过试验确定该方法中选择极端材料的比例与 QTL 检测效果及效应值之间的关系。结果显示, 群体大小为 150~200 的, 极端材料选择比例在 10%~30% 为最优。但是在选择了有限大小的群体后, 该方法虽能有效降低基因型鉴定的费用, 可是会导致低估 QTL 检测数目、高估 QTL 效应值等问题。本研究定位结果显示, 在 30%~10% 的 3 个选择压力下, QTL 检测数目在 2

年中基本呈减少的趋势, 而 QTL 的效应值方面, 2011 年 30%~10% 的 3 个选择压力下 QTL 的平均贡献率分别为 3.95%, 6.17%, 11.52%, 2013 年分别为 3.2%, 5.19%, 11.25%, 呈现出明显的增加的趋势, 与前人报道趋势一致。本研究中 2 年间同时检测到的 QTL 均是在 10% 选择压力下, 与前人报道 QTL 位点比较发现, 其中的 *qSPC-8-1* 与 Panthee 等<sup>[8]</sup>报道的  $\alpha$ -伴球蛋白含量相关 QTL “Alpha-prime conglycinin1-1”一致; 与 Lu 等<sup>[6]</sup>报道的 *qSPC-8-4* 一侧标记 GMENOD2B 相距区间 3 cM。2011 年 10% 选择压力下检测到的 *qSPC-17* 与 Panthee 等<sup>[8]</sup>报道的 7S、11S 蛋白含量相关 QTL Glycinin1-1、Conglycinin1-1 重叠, 与刘顺湖等<sup>[9]</sup>报道的 11S-4 蛋白含量相关 QTL *D211S-4* 标记区间 Satt662~Satt389, 相距 3.9 cM; 检测到的 *qSPC-9* 与 Panthee 等报道的酸性大豆球蛋白含量相关的 Acidic fraction 1-3 一致。在 30% 选择压力下检测到的 *qSPC-13-2* 与刘顺湖等<sup>[9]</sup>定位到的 QTL *F-11S-4* 标记区间重叠, 2013 年 20% 选择压力下检测到的分别位于 H 和 I 连锁群的 *qSPC-12-1*、*qSPC-20* 与 Lu 等<sup>[6]</sup>报道的 *qSP-12-8*、*qSPC-20-11* 相距小于 10 cM。综合以上结果推测, 在 10% 选择压力下定位结果较准确, 而具体不同选

择压力优异性,还需进一步与不同定位方法进行比较分析。

#### 参考文献:

- [1] Rhee K C. Functionality of soy proteins[A]. //Hettiarachchy N A, Ziegler G R (eds) Protein functionality in food systems[C]. New York: Marcel Dekker, 1994: 311 - 324.
- [2] Thanh V H, Shibasaki K. Major proteins of soybean seeds. A straight forward fractionation and their characterization[J]. J Agric Food Chem, 1976, 24: 1117 - 1121.
- [3] Malhotra A, Coupland J N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(1): 101 - 108.
- [4] Walsh D J, Cleary D, McCarthy E, et al. Modification of the nitrogen solubility properties of soy protein isolate following proteolysis and transglutaminase cross-linking[J]. Food Research International, 2003, 36: 677 - 683.
- [5] Wolf W J. Chemical and physical properties of soybean proteins[J]. Bakers Digest, 1969, 43: 30 - 35.
- [6] Lu W, Wen Z, Li H, et al. Identification of the quantitative trait loci (QTL) underlying water soluble protein content in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(2): 425 - 433.
- [7] Beilinson V, Chen Z, Shoemaker R C, et al. Genomic organization of glycinin genes in soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(6/7): 1132 - 1140.
- [8] Panthee D R, Kwanyuen P, Sams C E, et al. Quantitative trait loci for  $\beta$ -conglycinin (7S) and glycinin (11S) fractions of soybean storage protein[J]. J Am Oil Chem Soc, 2004, 81: 1005 - 1012.
- [9] 刘顺湖, 周瑞宝, 喻德跃, 等. 大豆蛋白质有关性状的 QTL 定位[J]. 作物学报, 2009, 35(12): 2139 - 2149.
- [10] 孙艳萍. 选择基因型作图方法在数量性状基因定位中的有效性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [11] Soufflet-Freslon V, Gianfranceschi L, Patocchi A, et al. Inheritance studies of apple scab resistance and identification of *Rvi14*, a new major gene that acts together with other broad-spectrum QTL[J]. Genome, 2008, 51(8): 657 - 667.
- [12] Nandi S, Subudhi P K, Senadhira D, et al. Mapping QTLs for submergence tolerance in rice by AFLP analysis and selective genotyping[J]. Mol Gen Genet, 1997, 255: 1 - 8.
- [13] Merk H L, Ashrafi H, Foolad M R. Selective genotyping to identify late blight resistance genes in an accession of the tomato wild species *Solanum pimpinellifolium* [J]. Euphytica, 2012, 187(1): 63 - 75.
- [14] Darvasi A, Soller M. Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and a quantitative trait locus[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1992, 85(2/3): 353 - 359.
- [15] Gallais A, Moreau L, Charcosset A. Detection of marker-QTL associations by studying change in marker frequencies with selection[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114(4): 669 - 681.
- [16] Navabi A, Mather D E, Bernier J, et al. QTL detection with bidirectional and unidirectional selective genotyping: marker-based and trait-based analyses[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(2): 347 - 358.
- [17] Sun Y P, Wang J K, Crouch J H, et al. Efficiency of selective genotyping for genetic analysis of complex traits and potential applications in crop improvement[J]. Molecular Breeding, 2010, 26(3): 493 - 511.
- [18] 李卫东, 张孟臣. 黄淮海夏大豆及品种参数[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2006.
- [19] 闫龙, 冯燕, 杨春燕, 等. 冀豆 12 遗传背景导入系蛋白、脂肪含量分布特征[J]. 华北农学报, 2012, 27(1): 87 - 92.
- [20] 陈强, 闫龙, 杨春燕, 等. 冀豆 12 遗传背景下 3 个回交组合高低蛋白含量后代品系 SSR 标记分析[J]. 中国农业科学, 2014, 47(2): 230 - 239.
- [21] 张孟臣, 唐晓东. 一种大豆水溶性蛋白检测方法[P]. 中国专利: 201110236317. 1, 2013 - 7 - 10.
- [22] Kaufman B, Richards S, Diefig D A. DNA isolation method for high polysaccharide *Lesquerella* species[J]. Industrial Crops and Products, 1999, 9(2): 111 - 114.
- [23] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome [J]. Crop Science, 1999, 39(5): 1464 - 1490.
- [24] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(1): 122 - 128.
- [25] 王涛, 杨春燕, 赵青松等. 两个大豆开花期 QTL 定位及对农艺性状的影响分析[J]. 华北农学报, 2013, 28(2): 63 - 69.
- [26] Hallauer A R, Miranda F. Quantitative genetics in Maize Breeding[M]. Ames: Iowa State University Press, 1981.
- [27] Falconer D S. Introduction to Quantitative Genetics[M]. London: Longman Scientific and Technical, 1989.
- [28] Foolad M R, Jones R A. Mapping salt-tolerance genes in tomato (*Lycopersicon esculentum*) using trait-based marker analysis[J]. Theor Appl Genet, 1993, 87: 184 - 192.
- [29] Foolad M R, Stoltz T, Dervinis C, et al. Mapping QTLs conferring salt tolerance during germination in tomato by selective genotyping[J]. Mol Breed, 1997, 3: 269 - 277.
- [30] Zhang L P, Lin G Y, Liu D N, et al. Mapping QTLs conferring early blight (*Alternaria solani*) resistance in a *Lycopersicon esculentum*  $\times$  *L. hirsutum* cross by selective genotyping[J]. Mol Breed, 2003, 12: 3 - 19.
- [31] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature[J]. Rice Genet News Letter, 1997, 14: 11 - 13.